



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 326 709**

⑫ Número de solicitud: 200601179

⑮ Int. Cl.:
A01N 35/06 (2006.01)
A01N 41/04 (2006.01)

⑫

ADICIÓN A LA PATENTE DE INVENCION

B1

⑫ Fecha de presentación: **09.05.2006**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **16.10.2009**

Fecha de la concesión: **22.07.2010**

⑮ Fecha de anuncio de la concesión: **05.08.2010**

⑮ Fecha de publicación del folleto de la patente:
05.08.2010

⑮ Número de solicitud de la patente principal:
P 009500522

⑮ Titular/es:
**Consejo Superior de Investigaciones Científicas
c/ Serrano, 117
28006 Madrid, ES**

⑮ Inventor/es: **Borges Pérez, Andrés Antonio y
Borges Rodríguez, Andrés Antonio**

⑮ Agente: **Pons Ariño, Ángel**

⑮ Título: **Uso de composiciones que contienen menadiona y/o alguno(s) de sus derivados hidrosolubles para bioestimular los mecanismos naturales de defensa de las plantas, a fin de desarrollar sus propiedades antialimentarias frente a los ataques de patógenos y plagas.**

⑮ Resumen:

Uso de composiciones que contienen menadiona y/o alguno(s) de sus derivados hidrosolubles para bioestimular los mecanismos naturales de defensa de las plantas, a fin de desarrollar sus propiedades antialimentarias frente a los ataques de patógenos y plagas.

Estas soluciones acuosas pueden contener indistinta o conjuntamente como componentes activos Vitamina K3, derivados suyos solubles [preferentemente menadiona sodio bisulfito ó MSB] o escasamente solubles [preferentemente menadiona nicotinamida bisulfito ó MNB], con concentraciones respectivas comprendidas entre 0.0001 y 200 ppm., 0.001 y 10000 ppm., 0.001 y 10000 ppm., preferentemente Vitamina K3 entre 0.001 y 100 ppm., MSB entre 0.01 y 5000 ppm, MNB entre 0.01 y 5000 ppm. Se aplican preferentemente por pulverización de la parte aérea de la planta o por el sistema de riego, pudiéndose mezclar con varios aditivos, como fertilizantes orgánicos e inorgánicos, insecticidas, nematocidas, fungicidas, bactericidas, herbicidas.

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Uso de composiciones que contienen menadiona y/o alguno(s) de sus derivados hidrosolubles para bioestimular los mecanismos naturales de defensa de las plantas, a fin de desarrollar sus propiedades antialimentarias frente a los ataques de patógenos y plagas.

Campo de la técnica

Esta invención está relacionada con el tema general de la bioestimulación de los mecanismos naturales de defensa de las plantas. En particular, esta invención está relacionada con el uso de composiciones que cuando son aplicadas a las plantas bioestimulan sus mecanismos naturales de defensa y originan el desarrollo por las mismas de propiedades antialimentarias frente a los ataques de patógenos y plagas.

Introducción

Como cualquier organismo vivo las plantas están sometidas a numerosos estreses medioambientales tanto abióticos como bióticos. Entre los abióticos se incluyen la sequía y las temperaturas extremas. Entre los bióticos se incluyen las plagas como insectos, arácnidos y nemátodos, y patógenos tales como bacterias, virus y hongos.

La disminución de los rendimientos de los cultivos como consecuencia de los ataques de patógenos y plagas, son de una gran importancia. Las pérdidas económicas causadas cada año en los cultivos se cifran en miles de millones de dólares a nivel mundial. El control de los efectos de tal tipo de estrés en los cultivos utilizando la mínima cantidad posible de pesticidas para evitar al máximo sus efectos secundarios nocivos para el medio ambiente, animales y personas, es uno de los grandes retos del hombre de nuestro tiempo en la agricultura.

Estado de la técnica

El peligro que para el suelo, medio ambiente, plantas, animales y personas, implica el uso excesivo de pesticidas, ha llevado a los investigadores a plantearse otras estrategias de protección de los cultivos. Una de las posibles estrategias es el uso de composiciones que activen los mecanismos naturales de defensa de las plantas frente a los ataques de patógenos y plagas, sin que la utilización de tales composiciones implique efectos nocivos sobre el suelo, el medio ambiente, las propias plantas, animales o personas. En este sentido, hemos venido investigando desde hace 25 años, sobre el efecto que los reguladores del crecimiento de las plantas podrían producir en el reforzamiento de los mecanismos naturales de defensa de las plantas y, como consecuencia, en la inducción de resistencia a patógenos y plagas en las plantas tratadas con dichos reguladores. En estas investigaciones hemos observado como un determinado tipo de reguladores del crecimiento de las plantas, los derivados hidrosolubles de la Vitamina K, eran capaces de estimular los mecanismos naturales de defensa de las plantas tratadas y consecuentemente de inducir resistencia frente a los ataques de patógenos y plagas.

["Compositions for inducing resistance to tracheomycosis in plants". Patente: WO 95/03702, publicada: 09.02.95]; ["Uso de composiciones que contienen menadiona, para bioestimular el metabolismo de plantas a fin de inducir su resistencia a patógenos y plagas". Patente: 95ES-9500522, publicada: 16.04.99]

La bibliografía sobre los reguladores del crecimiento de las plantas basados en la Vitamina K y sus derivados solubles en agua es muy reducida, apareciendo la primera referencia como Patente, en 1985 ["Plant growth regulator --- contg. menadione bisulphite - giving cold resistance to rice, vegetables, flowers and fruit trees". 83JP-179430, publicada: 24.04.85.], y seguida cronológicamente por las siguientes Patentes:

["Citrus fruit quality improving agent --- contains water --- soluble Vitamin K deriv. As active component" 85JP - 055993, publicada: 25.09.86];

["Plant growth regulator promoting increase in harvest yield ---- contains water - soluble Vitamin K other than menadione bisulphite adduct". 85JP - 054297, 25.09.86]

["Agent for promoting maturity crops ---- contains water - soluble Vitamin-K deriv. e.g. menadiol dinicotinate". 86JP - 028878, publicada: 20.08.87];

["Additive for rice seedlings cultivating mat --- contains water sol. Vitamin-K deriv. as active component". 86JP - 030770, publicada: 20.08.87];

["Fatigue of strawberry root preventing agent --- contains water soluble Vitamin-K deriv. as active component". 86JP - 032021, publicada: 22.08.87];

["Plant growth accelerator compsn. ---- based on Vitamin-K, contg. menadione and menadiol cpds. With aromatic amine salts and a carrier". 85ES - 542475, publicada: 16.06.88];

["Plant growth regulation". 76US - 4764201, publicada: 16.08.88];

ES 2 326 709 B1

["Seed treatment compsn. ----- contg. water - sol. Vitamin-K deriv. Of álcali metal, alkaline earth metal, etc." 89JP - 040255, publicada: 04.09.90];

5 ["Plant growth regulator for increase yield and quality ---- Vitamin-K3 and choline salt as active components". 89JP - 155629, publicada: 01.02.91];

["Plant growth promotion --- with menadione bisulphite adducts of vitamin(s) or aminoacid(s)". 90IT - 020777, publicada: 15.01.92];

10 ["Growth activator contg. Vitamin-K derives. ---- for agricultural or horticultural crop plant alleviating of chemical injury caused herbicide". 90JP - 153870, publicada: 16.01.92].

Hasta la publicación (16.04.99) de nuestra Patente: 95ES-9500522, antes señalada, no aparecen en la bibliografía referencias que relacionaran este tipo específico de reguladores del crecimiento de las plantas, la Vitamina-K y sus
15 derivados hidrosolubles, con la inducción de resistencia a patógenos y plagas en las plantas tratadas con dicho tipo de reguladores. Hemos seguido investigando, especialmente, en el cultivo de platanera (banana) y observamos como un derivado hidrosoluble de la Vitamina K3, la menadiona sodio bisulfito o MSB, estimulaba el adelanto de la floración de las plantas tratadas, frente a las no-tratadas. Consecuencia de estas investigaciones fue la publicación de las dos Patentes siguientes: ["Uso de composiciones que contienen menadiona, para bioestimular el metabolismo de las plan-
20 tas a fin de adelantar la floración en los cultivos de plátanos". 95ES-9500523, publicada: 01.10.98]; ["Utilization of compositions which contain menadione for the biostimulation of plant metabolism in order to induce their resistance to pathogens and pests and/or accelerate their blooming". WO 96/28026].

Hemos demostrado que las plantas tratadas con derivados hidrosolubles de la Vitamina K3, especialmente con
25 el MSB, no solamente inducen resistencia a patógenos y plagas [Patentes: WO 95/03702; 95ES - 9500522; WO 96/28026], sino que además originan el desarrollo de propiedades antialimentarias frente a los ataques de patógenos y plagas, en las plantas tratadas. Sorprendentemente, el pretratamiento de plantas con MSB logró disminuir significativamente el crecimiento en condiciones controladas del áfido *Myzus persicae*, vector de diferentes virus que atacan numerosos cultivos en todo el mundo. Ninguna referencia ha aparecido hasta la fecha en la bibliografía que relacio-
30 ne la vitamina K₃ y/o alguno de sus derivados hidrosolubles con el desarrollo de propiedades antialimentarias en las plantas tratadas con alguno de los citados componentes activos.

Descripción de la invención

35 Esta invención está relacionada con el uso de composiciones que contienen menadiona y/o alguno(s) de sus derivados hidrosolubles que cuando son aplicadas a las plantas bioestimulan sus mecanismos naturales de defensa, originando el desarrollo de propiedades antialimentarias en las plantas tratadas frente a los ataques de patógenos y plagas.

40 Esta invención describe el uso de una clase de compuestos que son sistémicos, biodegradables, no pesticidas, no tóxicos e inocuos desde el punto de vista medioambiental, y que no son peligrosos para las plantas, los animales y las personas. Dichos compuestos que originan el desarrollo de propiedades antialimentarias frente a los ataques de patógenos y plagas en las plantas tratadas, incrementando el rendimiento de los cultivos, son:

45 La menadiona o **Vitamina K3** (2-metil-1,4-naftalendiona ó 2-metil-1,4-naftoquinona), Merk index = 5714 , C.A.R.N. = [58 - 27 - 5] y sus derivados solubles en agua {preferentemente los diferentes compuestos de adición formados con bisulfito sódico (menadiona sodio bisulfito ó MSB, M.I. = 5716, C.A.R.N. = [130 - 37 - 0], o con bisulfito potásico, o con bisulfito amónico, o con bisulfito magnésico), y otros derivados de la Vitamina K3 de bajo nivel de solubilidad en agua {preferentemente menadiona nicotinamida bisulfito ó MNB, menadiona ácido p-aminobenzoico
50 bisulfito menadiona histidina bisulfito, menadiona adenina bisulfito, menadiona ácido nicotínico bisulfito y menadiona triptofano bisulfito}.

Las composiciones para desarrollar propiedades antialimentarias en las plantas tratadas, frente a los ataques de patógenos y plagas, bioestimulando los mecanismos naturales de defensa de las mismas, contienen:

55 **Vitamina K3** y/o al menos uno de sus derivados solubles en agua [preferentemente el menadiona sodio bisulfito ó MSB] y/o al menos uno de sus derivados de bajo nivel de solubilidad en agua [preferentemente el menadiona nicotinamida bisulfito ó MNB].

60 La aplicación a la superficie de la planta de una de las composiciones anteriormente señaladas, conteniendo una cantidad efectiva de uno o mas de los compuestos descritos, origina una respuesta protectora en aquella. La respuesta defensiva obtenida de esta forma es de naturaleza sistémica y, en consecuencia, el tratamiento de una parte de la planta desencadena la bioestimulación de los mecanismos naturales de defensa a través de toda la planta.

65 La forma recomendada para aplicar las diferentes composiciones es la pulverización de la parte aérea de la planta, lo que no excluye, por ejemplo, inyección en el tallo , aplicación directa al suelo u otro medio de crecimiento de la planta, o indirectamente a través del agua de riego (o solución de cultivo), o por inmersión del sistema radicular o de la totalidad de la planta (o de semillas) en las composiciones.

ES 2 326 709 B1

La efectividad de los componentes activos de las composiciones, referida a **Vitamina K3**, **MSB** y **MNB** puede esperarse a las siguientes concentraciones: **Vitamina K3** entre 0.0001 y 200 p.p.m.; **MSB** entre 0.001 y 10000 p.p.m.; **MNB** entre 0.001 y 10000 p.p.m.; preferentemente **Vitamina K3** entre 0.001 y 100 p.p.m., **MSB** entre 0.01 y 5000 p.p.m., **MNB** entre 0.01 y 5000 p.p.m.

La concentración de los componentes activos de las composiciones dependerá del tipo de planta, fase de desarrollo de la misma, así como de la frecuencia y forma de aplicación de las composiciones.

Asimismo, dichas composiciones se pueden mezclar con varios aditivos, por ejemplo: fertilizantes orgánicos e inorgánicos, insecticidas, nematocidas, fungicidas, bactericidas, herbicidas.

Ejemplo 1

En un bioensayo de no elección, previo a este ejemplo, sobre el asentamiento de *Myzus persicae* en colza sobre plantas tratadas con MSB y plantas Control, no se encontraron diferencias significativas en el asentamiento de *M. persicae* sobre ambos grupos de plantas en las primeras 24 horas.

Descripción del bioensayo. En el bioensayo de doble elección del ejemplo se utilizaron 80 plantas de colza con un desarrollo de 4 a 6 hojas, 40 para el tratamiento con MSB y 40 para las plantas Control. El bioensayo consistió en determinar el peso del áfido *Myzus persicae* asentado desde cuatro días después de su nacimiento hasta el estado adulto a los dieciséis días, tanto en las plantas tratadas previamente con MSB como en las plantas Control, en cabinas especiales para este tipo de experimentación. Los resultados obtenidos son mostrados en la siguiente Tabla.

TABLA

Estudio comparativo de los pesos (mg) de Myzus persicae asentado sobre plantas de colza tratadas con MSB versus los pesos sobre las plantas Control en un bioensayo de doble elección¹

Planta Tratamiento	Peso (mg) (Valor medio \pm D.S.) ²			
	Días después del nacimiento de <i>M. persicae</i>			
	4 días	8 días	12 días	16 días
MSB (200 μ M)	0.221 \pm 0.02 ^a	0.422 \pm 0.01 ^a	0.425 \pm 0.01 ^a	0.429 \pm 0.02 ^a
Por pulverización				
24 horas antes del bioensayo				
Colza				
CONTROL (H ₂ O)	0.307 \pm 0.01 ^b	0.582 \pm 0.01 ^b	0.584 \pm 0.02 ^b	0.587 \pm 0.01 ^b
Por pulverización				
24 horas antes del bioensayo				

(1) Valor medio basado en 10 repeticiones

(2) En cada columna los pares de valores seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.001$) basado en el test de la t de Student para la comparación de medias

Estos resultados muestran claramente que el tratamiento con MSB de las plantas de colza, como se ha descrito en este ejemplo, originó que los pesos de los áfidos sobre las plantas tratadas fueran significativamente inferiores a los de las plantas Control, en cada fase del desarrollo de *M. persicae*.

- 5 En otro bioensayo previo, en tomate y colza, también se pudo comprobar que la capacidad reproductiva de *M. persicae* fue significativamente reducida sobre las plantas tratadas con MSB en comparación con la de las plantas Control.

10 Ejemplo 2

- Descripción del bioensayo.* Se llevaron a cabo dos ensayos independientes sobre plantas de tomate de 4-5 semanas de crecimiento. El ensayo consistió en poner 5 adultos de *Myzus persicae* sobre hojas de tomate pretratadas 24 horas antes con MSB (200 μ M) y con agua (Control). Cuatro días después se retiraron los individuos adultos dejando únicamente 5 ninfas sincronizadas. Estas ninfas se mantienen asentadas un período de 11 días sobre las hojas tratadas y no tratadas de las mismas plantas y en ese momento se procede al conteo del número de ninfas nuevas puestas por tratamiento. Los resultados obtenidos se resumen en la siguiente tabla:

TABLA

Tasa reproductiva 11 días después de la puesta de ninfas (5 ninfas/hoja)

Tratamiento	Media* Nº ninfas	% reducción tasa reproductiva
MSB	13.5 a	50.9
Control	27.5b

*Media de 5 réplicas por tratamiento. Valores dentro de la misma columna seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes al $P = 0.05$ de acuerdo con procedimiento estadístico t-test. El experimento fue repetido de forma independiente dos veces con resultados similares.

REIVINDICACIONES

5 1. Uso de composiciones para bioestimular los mecanismos naturales de defensa de las plantas **caracterizadas** porque contienen en solución acuosa, al menos uno de los siguientes componentes activos

- 0.0001 a 200 p.p.m. de Vitamina K3;

10 - 0.001 a 10000 p.p.m. de un derivado de Vitamina K3 soluble en agua , preferentemente un bisulfito;

- 0.01 a 10000 p.p.m. de un derivado de Vitamina K3 de bajo nivel de solubilidad en agua preferentemente un bisulfito;

15 a fin de desarrollar propiedades antialimentarias en las plantas tratadas con dichas composiciones, frente a los ataques de patógenos y plagas.

2. Uso de composiciones según la reivindicación 1, **caracterizadas** porque se aplican a la parte aérea de la planta, preferentemente mediante pulverización.

20 3. Uso de composiciones según las reivindicaciones 1 y 2, **caracterizadas** porque se aplican al tallo de la planta, preferentemente por inyección.

4. Uso de composiciones, según las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizadas** porque se aplican directamente al suelo u otro medio de crecimiento de las plantas, o indirectamente a través del agua de riego (o solución de cultivo), o por inmersión del sistema radicular de las plantas o de semillas en las composiciones reivindicadas en 1.

5. Uso de composiciones según las reivindicaciones 1 a 4, en las que dichas composiciones se utilizan como tales o mezcladas con aditivos como fertilizantes orgánicos o inorgánicos, insecticidas, nematocidas, fungicidas, bactericidas, herbicidas.

30 6. Uso de composiciones para bioestimular los mecanismos naturales de defensa de la planta, a fin de desarrollar propiedades antialimentarias en las plantas tratadas con dichas composiciones frente a los ataques de patógenos y plagas, según las reivindicaciones 1 a 5, en las que dichas composiciones pueden ser aplicadas a las plantas antes, después o simultáneamente con los pesticidas.



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ ES 2 326 709

⑫ Nº de solicitud: 200601179

⑬ Fecha de presentación de la solicitud: **09.05.2006**

⑭ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑮ Int. Cl.: **A01N 35/06** (2006.01)
A01N 41/04 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑯ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	WEISSEMBERG, M. et al. "Effect of substituent and ring changes in naturally occurring naphthoquinones on the feeding response of larvae of the mexican bean beetle, <i>Epilachna varivestis</i> ". JOURNAL OF CHEMICAL ECOLOGY. 01.01.1997. Vol. 23, Nº. 1, páginas 3-18; tabla 1 y resultados.	1-6
A	HIRATA, M. et al. "Antifeeding activity of chlordimeform for plant-sucking insects". APPL.ENT.ZOOL. 1976. Vol. 11, Nº. 2 páginas 94-99; todo el documento.	1-6

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
30.09.2009

Examinador
M. Novoa Sanjurjo

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, BIOSIS, GOOGLE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 30.09.2009

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-6	SÍ
	Reivindicaciones		NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-6	SÍ
	Reivindicaciones		NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial**. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión:

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

Consideraciones:

La invención consiste en la utilización de composiciones en las que están presentes la vitamina K3 (menadiona) y sus derivados menadiona sodio bisulfito (MSB) y menadiona nicotinamida bisulfito (MNB), cuyo uso para estimular el metabolismo de las plantas e inducir la resistencia a patógenos ha sido descritas previamente en la solicitud P9500522 y de la que la presente solicitud constituye una adición, para desarrollar propiedades antialimentarias en las plantas tratadas con dichas composiciones.

1. Documentos considerados:

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WEISSEMBERG, M. et al. "Effect of substituent and ring changes in naturally occurring naphthoquinones on the feeding response of larvae of the mexican bean beetle, <i>Epilachna varivestis</i> ". JOURNAL OF CHEMICAL ECOLOGY. 01.01.1997. Vol. 23, Nº. 1, páginas 3-18.	01.01.1997
D02	HIRATA, M. et al. "Antifeeding activity of chlordimeform for plant-sucking insects". APPL.ENT.ZOOL. 1976. Vol. 11, Nº. 2, páginas 94-99.	1976

Observaciones sobre documentos:

El documento D01, describe las propiedades antialimentarias de un grupo de naftoquinonas, entre las que se encuentra la menadiona. Los ensayos se realizaron en larvas del escarabajo *Epilachna varivestis* y la concentración de menadiona fue del 3%. Esta concentración es dos órdenes de magnitud superior a la mayor concentración de menadiona reivindicada en la presente solicitud.

El documento D02, describe las características antialimentarias del compuesto clordimeformo en insectos chupadores entre los que se encuentra el áfido *Myzus persicae*, el mismo utilizado en los ensayos de la presente solicitud.

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

Los documentos citados solo muestran el estado general de la técnica y no se consideran de particular relevancia, ya que para una persona experta en la materia no sería obvio aplicar las características de los documentos citados y llegar a la invención tal como se contempla en las reivindicaciones. Por tanto, el objeto de la presente solicitud, cumple los requisitos de novedad y actividad inventiva de acuerdo a los Art. 6 y 8 de la LP.